

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Thrombozyten und Gefäßwand

Wenzel Jäger

1964

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik
Frankfurt/Main
Direktor: Prof. Dr. med. F. Hoff

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN
THROMBOZYTEN UND GEFÄßWAND

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
gesamten Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt/Main

vorgelegt von
Wenzel Jäger
aus Frankfurt/Main

Frankfurt/Main
1963



Dekan: Prof. Dr. J. Frey
Referent: Privatdozent Dr. R. Heinecker
Korreferent: Prof. Dr. W. Rotter
Mündliche Prüfung: 4. September 1964

1. Darstellung der ersten Darstellung der	1
kleinsten Maschine nach der klein-	
steigsten Bauweise und deren Bau-	
weise nach der Bauweise.	

2. Zusammenfassung der ersten Darstellung	2
nach der Bauweise und der Bau-	

Ergebnisse

1. Zusammenfassung der ersten Darstellung	3
2. Zusammenfassung der ersten Darstellung	4
3. Zusammenfassung der ersten Darstellung	5
4. Zusammenfassung der ersten Darstellung	6
5. Zusammenfassung der ersten Darstellung	7
6. Zusammenfassung der ersten Darstellung	8
7. Zusammenfassung der ersten Darstellung	9
8. Zusammenfassung der ersten Darstellung	10
9. Zusammenfassung der ersten Darstellung	11
10. Zusammenfassung der ersten Darstellung	12

Meiner Mutter

11. Zusammenfassung der ersten Darstellung	13
12. Zusammenfassung der ersten Darstellung	14
13. Zusammenfassung der ersten Darstellung	15
14. Zusammenfassung der ersten Darstellung	16
15. Zusammenfassung der ersten Darstellung	17
16. Zusammenfassung der ersten Darstellung	18
17. Zusammenfassung der ersten Darstellung	19
18. Zusammenfassung der ersten Darstellung	20
19. Zusammenfassung der ersten Darstellung	21
20. Zusammenfassung der ersten Darstellung	22

Ergebnisse

1. Zusammenfassung der ersten Darstellung	23
2. Zusammenfassung der ersten Darstellung	24
3. Zusammenfassung der ersten Darstellung	25
4. Zusammenfassung der ersten Darstellung	26
5. Zusammenfassung der ersten Darstellung	27
6. Zusammenfassung der ersten Darstellung	28
7. Zusammenfassung der ersten Darstellung	29
8. Zusammenfassung der ersten Darstellung	30
9. Zusammenfassung der ersten Darstellung	31
10. Zusammenfassung der ersten Darstellung	32



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und kurze Darstellung der bisherigen Kenntnisse über die physiologische Gefäßabdichtung und deren Beeinflussung durch die Thrombozyten.	1
B. Untersuchungen mit dem Fibrinfestigkeitsfaktor nach Breddin und Donalies.	4
Ergebnisse:	
1. Blutungszeit der normalen Ratte.	5
2. Blutungszeit der Ratte nach Injektion von Fibrinfestigkeitsfaktor.	5
3. Blutungszeit der Ratte nach Gabe von Heparin und dem Fibrinfestigkeitsfaktor.	7
4. Blutungszeit der Ratte nach Injektion von Kaninchen-Antiserum gegen Rattenthrombozyten.	7
5. Blutungszeit der Ratte nach Gabe von Kaninchen-Antiserum gegen Rattenthrombozyten und dem Fibrinfestigkeitsfaktor.	8
C. Untersuchungen über die Ausbreitung der Thrombozyten an blutfremden Oberflächen und ihre Beziehung zur Gefäßwand.	11
Ergebnisse:	
1. Färbung der Thrombozyten.	14
2. Verhalten der Thrombozyten am Rattenmesenterium.	15

3. Übertragung des dem Endothel auf-
gelagertem Materials auf Objekt-
träger. 16
4. Überschichtung frisch operierter
Aorten vom Rhesusaffen mit thrombo-
zytenhaltigem Plasma. 17
5. Umwandlungen von lebenden ausgebrei-
teten Thrombozyten durch Zugabe von
Calciumchlorid, Thromboplastin oder
Thrombin. 17

D. Diskussion 18

E. Zusammenfassung 21

Literaturverzeichnis

A. Einleitung und kurze Darstellung der bisherigen Kenntnisse über die physiologische Gefäßabdichtung und deren Beeinflussung durch die Thrombozyten.

Für eine normale Blutstillung bei Verletzungen ist das Vorhandensein eines intakten Gerinnungssystems und eine normale Zahl und Funktion der Thrombozyten Voraussetzung. Daneben spielt die Gefäßkontraktion, besonders bei Verletzung größerer Gefäße, eine Rolle. Bei einer frischen Verletzung kleinerer Gefäße und im Kapillarbereich kommt die primäre Blutstillung in erster Linie durch die Bildung eines Thrombozytenpfropfes, des sogenannten clou hémostatique nach Roskam (1958), zustande.

Für die dauerhafte Blutstillung ist dann das normale Funktionieren des Gerinnungssystems, das zu einem Fibringerinnsel in Verbindung mit dem Thrombozytenpfropf führt, Voraussetzung. Besonders auf Grund der Untersuchungen von Jaques (1962) ist die Bedeutung der drei Systeme: Plasmatisches Gerinnungssystem, Thrombozyten und Gefäßwirkung bekannt.

Seine Untersuchungen zeigten, daß der Organismus den Ausfall einer dieser drei Funktionen zu kompensieren vermag. Wurden jedoch experimentell zwei der Systeme blockiert, so trat eine zum Tode führende hämorrhagische Diathese auf.

Während die Rolle der Thrombozyten für die Blutstillung bei Verletzungen sehr weitgehend erforscht wurde, blieb die Kenntnis über die Beziehung zwischen Thrombozyten und Gefäßwand noch sehr unvollständig.

Schon lange ist bekannt, daß bei Thrombozytopenien aber auch bei Thrombozytopathien eine allgemeine Kapillardurchlässigkeit auftritt, die sich klinisch besonders in der Neigung zu Blutungen in Form von petechialen Herden und in einer allgemeinen hämorrhagischen Diathese äußert. Bei Störungen des Gerinnungs-

systems treten dem gegenüber spontan keine hämorrhagischen Erscheinungen auf. Auch bei den schwersten Störungen dieses Systems, wie den Hämophilien oder der angeborenen Afibrinogenämie, kommt es nur dann zur Blutung, wenn durch mehr oder weniger große Verletzungen Blutgefäße eröffnet werden. Gerade das letztgenannte Beispiel der Afibrinogenämie ist auch ein entscheidendes Gegenargument gegen die von manchen Autoren vermutete Abdichtung der Blutgefäße durch Fibrin oder ein sogenanntes Pro-fibrin.

Auf enge Beziehungen zwischen Gefäßwand und den Plättchen wiesen Untersuchungen von Danielli (1940) hin, der an den perfundierten Hinterextremitäten des Frosches die Resistenz der Gefäße durch die Anwesenheit von Thrombozyten in der Perfusionslösung erheblich steigern konnte. Chambers und Zweifach (1947) glaubten, daß die Endothelzellen einen Interzellularzement produzieren, der eine vermehrte Permeabilität der Kapillaren verhindert. Sein physikalischer Zustand soll sich entsprechend dem pH und dem Calciumgehalt der umgebenden Flüssigkeit ändern. Wilbrandt, Lüscher und Asper (1956) konnten am modifizierten Pappenheimer-Präparat, einer Methode zur Untersuchung der Kapillarpermeabilität in perfundierten Hinterextremitäten von Ratten, die durch calciumentziehende Perfusion angestiegene Kapillarpermeabilität durch Zufuhr von Thrombozytenextrakten (Protein "S" + Calcium) wieder normalisieren. Nach Duguid (1952), Copley (1954, 1957) und Roos (1957) besteht die endokapilläre Grenzschicht aus nicht geronnenem Fibrin, das kontinuierlich produziert und auf dem Endothel niedergeschlagen wird. Witte (1957) nahm an, daß die Plättchen im Randstrom des Blutes die Gefäßintegrität dadurch aufrechterhalten, daß sie durch eine "latente Gerinnung" (Lasch und Røka, 1953, 1954), einen dauernden Fibrinfilm bilden. Ein lokaler Kontakt der Thrombozyten mit der Gefäßwand spielte nach ihren Beobachtungen für ihre Beteiligung an der Aufrechterhaltung der Gefäßpermeabilität keine Rolle.

Die Fibrinablagerungen dürften jedoch kaum allein für die Abdichtung der Kapillaren verantwortlich sein, da die verminderte Kapillarresistenz ein typisches Merkmal der Thrombopenie und Thrombasthenie nicht aber der Afibrinogenämie ist. (Baumgartner, 1956)

Lüscher (1959) glaubte, daß die im Rahmen einer latenten Gerinnung im Kreislauf ständig ablaufende visköse Metamorphose der Plättchen (Eberth und Schimmelbusch, 1886) für die Aufrechterhaltung der Funktionstüchtigkeit der Gefäße verantwortlich sei. Er nahm im übrigen an, daß in Erwägung gezogen werden müsse, daß ein noch nicht näher identifizierter weiterer Thrombozytenfaktor bei der Aufrechterhaltung der Gefäßabdichtung eine wesentliche Rolle spiele.

Lüscher (1959) fand in zellfreien Extrakten aus menschlichen Plättchen ein kontraktiles Protein das er Protein "S" und später Thrombosthenin nannte, bei dem es sich um ein actomyosinähnliches Eiweiß handelt, welches insbesondere für die retraktionsauslösende Wirkung der Thrombozyten unter den Einfluß von Adenosintriphosphat (ATP) verantwortlich gemacht wurde.

Breddin und Donalies (1960) fanden in zellfreien Plättchenextrakten aus menschlichen- und Schweinethrombozyten einen Faktor, der die Fibrinfestigkeit eines thrombozytenarmen Plasmas im Thrombelastogramm wesentlich steigerte, und dessen Wirkung ebenfalls durch ATP weiter verstärkt werden konnte. Mit diesen Extrakten konnte allerdings keine Wirkung auf die Retraktion beobachtet werden. Es ist bis jetzt noch ungeklärt, ob dieser Fibrinfestigkeitsfaktor (FFF) mit dem Thrombosthenin Lüschers identisch ist.

Es erschien uns von Interesse festzustellen, ob mit diesem Fibrinfestigkeitsfaktor, der für unsere Untersuchungen vom Schwein stammte, und dessen Wirkung in vitro gesichert war ein Einfluß auf die Blutungszeit, gemessen am Rattenmesenterium, vorhanden ist.

B. Untersuchungen mit dem Fibrinfestigkeitsfaktor
nach Breddin und Donalies

Methodik:

Zur Untersuchung wählten wir die Bestimmung der Blutungszeit an Mesenterialgefäßen der weißen Ratte.

Es wurde jeweils eine Darmschlinge mit ihrem Mesenterium auf eine Glasplatte vorgelagert, und mit erwärmter physiologischer Kochsalzlösung gespült. Nun wurden Venen mittlerer Größe durchtrennt, und die Blutungszeit des peripheren Gefäßstumpfes gemessen.

Ein Kaninchen-Antiserum gegen Rattenthrombozyten wurde auf folgende Weise hergestellt:

2 Kaninchen erhielten 12 Injektionen (2 Injekt./Woche intravenös) von je 0,5-1.0 ml einer Suspension von Ratten-Thrombozyten, die durch Differentialzentrifugieren von 20-24 ml Rattenzitratblut gewonnen wurden (0,6-1,8 Mio. Thrombozyten/cmm). Die Kaninchen wurden entblutet, und das Serum durch scharfes Zentrifugieren abgetrennt und in kleinen Portionen zu 0,5 ml bei -20°C eingefroren. Die so gewonnenen Antiseren hatten einen Thrombozyten-Agglutinationstiter von 1:16 bzw. 1:32. Das letztere Serum wurde verwendet.

Der Fibrinfestigkeitsfaktor wurde nach der Methode von Breddin und Donalies aus Schweinethrombozyten gewonnen. Seine Wirksamkeit wurde im Teg geprüft.

Die Thrombozytenzählung erfolgte nach Feissly-Lüdin (1949) im Phasenkontrastmikroskop.

1.) Blutungszeit der normalen Ratte

Zunächst wurden die Blutungszeiten an normalen, nicht vorbehandelten Ratten bestimmt. Die Ergebnisse sind auf Tabelle I angeführt. Der Mittelwert der Blutungszeiten betrug: 2 Min. 50 Sek., mit einer Schwankungsbreite von 1 Min. 0,5 Sek. bis 5 Min. 47 Sek.

Tabelle I

Nummer der Versuchstiere	1	2	3	4	5
Blutungszeit Min.Sek.					
	3 03	1 19	3 00	2 00	2 40
	2 14	2 18	4 05	1 30	1 15
	4 07	1 16	1 12	1 15	
	2 43	2 28	1 05	1 07	
	3 30	1 54	5 30	3 35	
	2 30	5 47			
	4 30	1 45			
	2 39	4 40			
		3 36			
		5 40			
		3 22			

Die unterschiedlichen Werte erklären sich weitgehend aus dem unterschiedlichen Kaliber der verwendeten Mesenterialgefäße.

2.) Blutungszeit der Ratte nach Injektion von Fibrin- festigkeitsfaktor

Bei einer zweiten Gruppe von Ratten wurde zunächst die Blutungszeit nach Freilegung des Mesenteriums bestimmt. Dann erhielten die mit "Nembutal" narkotisierten Tiere verschiedene Mengen des Fibrin-**f**estigkeitsfaktors in die Schwanzvenen injiziert. Anschließend wurde, solange

möglich, die Blutungszeit gemessen. In Vorversuchen war geklärt worden, daß die Injektion des Fibrinfestigkeitsfaktors in den verwandten Dosen nicht zu erkennbaren Schädigungen der Ratten führte.

Ergebnisse siehe Tabelle II.

Tabelle II

Nummer der Versuchstiere	6	7	8
Blutungszeit	Min.Sek.		
	2 10	4 05	3 02
	4 00	4 03	4 15
FFF i.v.(ml)	0,5	0,2	0,3
NaCl ad		0,8	0,9
	5 04	2 30	4 10
	2 03	2 25	3 14
	6 45	3 10	4 20
		2 30	8 23
		2 05	2 20
		2 26	3 01
		9 03	
		12 44	
		20 02	

Eine signifikante Verkürzung der Blutungszeit war an den Versuchstieren nicht zu beobachten. Die Ursache der bei dem Tier Nr. 7 kurz vor dem Tode aufgetretene Verlängerung der Blutungszeit blieb ungeklärt.

3.) Blutungszeit der Ratte nach Gabe von Heparin und Fibrinfestigkeitsfaktor (FFF)

Bei einer weiteren Gruppe von Tieren untersuchten wir zunächst die Blutungszeit nach intravenöser Gabe von Heparin. Es wurde dann geprüft, ob die verlängerte Blutungszeit nach Heparin durch intravenöse Gabe des Fibrinfestigkeitsfaktors verkürzt werden konnte. Eine derartige Verkürzung konnten wir in keinem Falle beobachten. Siehe Tabelle III.

Tabelle III

Nr. der Versuchstiere	9	10	11	12
E. Liquemin	100	80	100	150
<u>Blutungszeit Min.Sek.</u>				
	6 00		5 30	6 30
	6 30	19 -	18 -	15 -
19 00	<u>Während der Blutung wurde gegeben:</u>			
7 15	FFF 0,3		0,5	0,5
9 50	(ml)			
	NaCl 0,8			
14 00	ad	60 10	20 05	9 -
14 30				

4.) Blutungszeit der Ratte nach Injektion von Kaninchen-Antiserum gegen Rattenthrombozyten (KA)

Bei drei weiteren Tieren prüften wir zunächst die Wirkung des von uns hergestellten Kaninchen-Antiserums gegen Rattenthrombozyten. Nach der intravenösen Gabe des Serums fand sich ein prompter Thrombozytensturz mit entsprechender Verlängerung der Blutungszeit. Siehe Tabelle IV. Zur Ermittlung der Toxizität wurden zwei Tieren 0,3 ml des Antiserums gegeben. Da keine Reaktion zu beobachten war, wurden nach einer Stunde 0,6 ml nachgespritzt. Nach einigen Stunden trat der

Tod der Versuchstiere ein.

Tabelle IV

Nr. der Versuchstiere	13	14	15
Normalwert Thr./cmm	300 000	250 000	350 000
KA (ml)	0,5	0,3	0,3
NaCl ad	1,0	1,0	
KA (ml) n.50 Min.			0,3
Thr./cmm nach 15 Min.	50 000	20 000	
nach 70 Min.			50 000

Blutungszeit	Min.	Sek.
	9	07
	9	14
	8	12
	7	15
	9	10
	15	03
	5	20
	12	40
	7	30
	4	30
	25	15
	4	10
	4	02
	5	30

Thr./cmm nach 90 Min.	45 000
-----------------------	--------

5.) Blutungszeit der Ratte nach Gabe von Kaninchen Antiserum gegen Rattenthrombozyten und dem Fibrinfestigkeitsfaktor

In weiteren Versuchen prüften wir ob sich mit Hilfe des FFF eine Verkürzung der Blutungszeit thrombopenischer Ratten erzielen ließ. Siehe Tabelle V.

Tabelle V

Nr. der Versuchstiere	16	17	18	19
Normalwert				
Thr./cmm	400 000	350 000	300 000	320 000
KA (ml)	0,5	0,5	0,3	0,4
NaCl ad	1,0	0,8	1,0	1,0
Thr./cmm nach 15 Min.	30 000	15 000	20 000	18 000
Blutungszeit	Min.Sek.			
	11	03	10	30
			8	25
FFF (ml)	0,5	0,5	0,3	0,35
NaCl ad	1,0	0,8	1,0	
	7 10	10 15	16 30	32 -
	5 30	6 07		
	7 05	4 30		
		3 16		
		3 27		
		8 15		
		7 16		
		7 07		
		5 12		
		4 25		
		7 31		
		11 47		
Thr./cmm nach 90 Min.	30 000	15 000		

Wie aus den Werten hervorgeht, konnte eine eindeutige Verkürzung der Blutungszeit nach Gabe des Fibrin-
festigkeitsfaktors nicht beobachtet werden. Eine sichere
Wirkung des FFF auf die Blutungszeit der normalen, hepa-
rinisierten oder thrombopenischen Ratte konnten wir nicht
beobachten. Sicherlich ist hierbei zu berücksichtigen,
daß bei unseren Versuchen ein artfremdes Eiweiß
(Thrombozyten vom Schwein) angewendet wurde. Anderer-
seits war uns auf Grund der in vitro Versuche bekannt,

daß auch der FFF seine volle Wirkung offenbar nur im lebenden, funktionstüchtigen und insbesondere stoffwechselmäßig intakten Thrombozyten entfaltet. Es war deshalb auch kaum zu erwarten, daß wir mit unseren Extrakten unter den gewählten Versuchsbedingungen einen verkürzenden Einfluß auf die Blutungszeit feststellen konnten. Eine Beurteilung der petechialen Herde einer thrombopenischen Ratte, und deren eventuelle Beeinflussung durch den FFF erwies sich als zu unsicher insbesondere, da nach Gabe des Anti-Ratten-Thrombozyten-Serums die Thrombozytenzahl sich nach wenigen Stunden wieder normalisierte. Auch auf Grund unserer Kenntnisse über die Funktion der Thrombozyten unter normalen und pathologischen Bedingungen erschien es uns wahrscheinlich, daß für die Beziehung zwischen Thrombozyten und Gefäßwand das Vorhandensein intakter, voll lebensfähiger und sowohl im Hinblick auf den Stoffwechsel als auch auf die Inhaltsstoffe voll funktionsfähiger Thrombozyten Voraussetzung ist.

Breiddin und Bürck (1963) konnten zeigen, daß die Ausbreitungsfunktion der Thrombozyten offenbar eine Voraussetzung für das Verhüten von petechialen Herden ist. Bei einem Patienten mit einer erworbenen Thrombozytenfunktionstörung bei normaler Thrombozytenzahl, fand sich ein Fehlen nur dieser Funktion, während die Retraktion und die Fibrinfestigkeit (Teg) normal waren: Unter der Behandlung mit Prednison verschwanden die petechialen Herde gleichzeitig mit der Störung der Ausbreitungsfunktion. Es schien deshalb naheliegend zu versuchen, ob sich ausgebreitete Thrombozyten an der Gefäßwand von Tieren nachweisen ließen. Dabei gingen wir zunächst von der Vorstellung aus, daß vielleicht eine kontinuierliche Schicht von ausgebreiteten Thrombozyten das gesamte Gefäßsystem auskleidet, und so den seit vielen Jahren gesuchten "Gefäßkitt" darstellt. Es erschien uns denkbar, daß eine außerordentlich dünne

Schicht von ausgebreiteten Thrombozyten mit einer Dicke von ca. 0,1 My sich wegen ihrer großen Labilität bisher dem mikroskopischen Nachweis entzogen hat.

C. Untersuchungen über die Ausbreitung der Thrombozyten an blutfremden Oberflächen und ihre Beziehung zur Gefäßwand

Während schon Glanzmann (1918) morphologische Veränderungen der Plättchen bei Thrombasthenien beschrieben hatte, wurden derartige morphologische Veränderungen der thrombasthenischen Plättchen auch später häufig beobachtet. Auf Grund elektronenoptischer Untersuchungen beschrieb Braunsteiner (1951, 1955) Störungen der Ausbreitungsfähigkeit der Thrombozyten bei Thrombasthenien. Die Morphologie ausgebreiteter und nicht ausgebreiteter Thrombozyten, die an Zaponlackfolien hafteten, beschrieb Köppel (1958) auf Grund elektronenoptischer Untersuchungen.

Marx, Ibrom und Stanislawski (1960) gaben ein Verfahren an, das es gestattet Thrombozyten unter Benutzung des Prinzips der Selbstvergrößerung auf blutfremden Oberflächen auszubreiten, zu fixieren und nach Oxydation zu färben. In Abwandlung der angegebenen Methode nach Breddin (1961) verwendeten wir silikonisierte Objektträger, und gingen folgendermaßen vor:

Die Objektträger werden mit Äther gereinigt, kurz in eine Lösung von Silikonöl (Wacker, R 500) in Tetrachlorkohlenstoff getaucht, und drei Stunden bei 300°C eingebrannt. In einer feuchten Kammer wurden die silikonisierten Objektträger mit einem thrombozytenhaltigen Zitratplasma (Verdünnung 1:20) für die Dauer von 60-80 Minuten überschichtet. Als Verdünnungsflüssigkeit wurde eine Kochsalz-Zitratmischung (9 Teile einer physiologischen Kochsalzlösung und 1 Teil einer 3,8%igen Natrium-Zitratlösung) verwendet. Nach Ablauf der Ausbreitungszeit werden die Objektträger rasch etwa 20 mal in ein Gefäß mit Spülflüssigkeit getaucht (Kochsalz-Zitratmischung). Dabei fallen die Erythrozyten und die Leukozyten weitgehend (bei Normalblut) ab, und die

Thrombozyten bleiben allein haften. Die abgespülten Objektträger werden dann in einer osmiumsäurehaltigen, verschlossenen Schale auf Glasstäbe gelegt und 10 Min. fixiert. Danach werden die Zellen mit 0,25%iger Kaliumpermanganatlösung 10 Minuten lang oxydiert. Die Lösung wird mit destilliertem Wasser wieder abgespült, und die Thrombozyten werden nun mit filtrierter Giemsalösung (Verdünnung 1:10 mit destilliertem Wasser ph 4-6) 90 Minuten lang gefärbt.

Als Beispiel für derartige Ausbreitungspräparate zeigt die Abbildung 1 (S.13) die Ausbreitung von Thrombozyten vom Menschen und von der Meerkatze.

An geeigneten Oberflächen kann sich ein großer Teil der Thrombozyten von der ursprünglichen Größe von 2 My bis zu einer Größe von 7-10 My ausbreiten. Wir versuchten nun Präparate von Gefäßendothelien herzustellen, an denen wir auch noch die haftenden Thrombozyten nachweisen wollten.

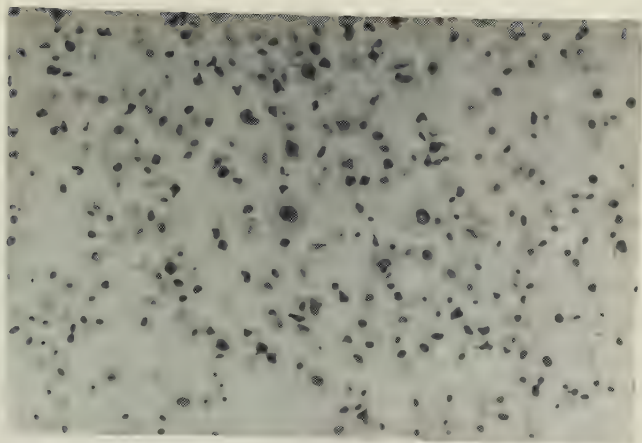
In Anlehnung an eine von Sinapius (1952) angegebene Methode gelang es uns bald einschichtige Endothelpräparate herzustellen. Als Untersuchungsmaterial dienten außer Kaninchen, Hunden und Meerkatzen hauptsächlich Rhesusaffen. Auch an den Thrombozyten dieser Tiere kann die Ausbreitung nachgewiesen werden; jedoch muß hier besonders schnell und sauber gearbeitet werden, da die visköse Metamorphose schneller abläuft als beim Menschen.

Hierdurch werden wohl auch die relativ kurzen Blutungszeiten am Rattenmesenterium erklärt, wo die Blutstillung auch an ziemlich großen Gefäßen durch Bildung des "Clou haemostatique" wesentlich schneller erfolgt als etwa beim Menschen.

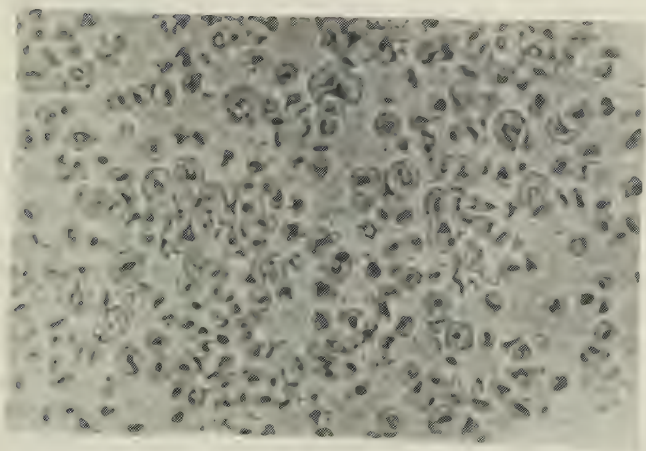
Wir gingen im einzelnen dabei folgendermaßen vor:

Die Aorta thoracica wird aus den narkotisierten und heparinisierten Tier (5000 E.Liquemin/Rhesusaffe) herausoperiert und sofort kurz in Zitrat-Kochsalzlösung (1:5) gebadet, um die visköse Metamorphose der Thrombozyten zu verhindern. Anschließend wird das aufgeschnittene Gefäß in "Maximow'scher Lösung" (10 Teile Zenkersche Lösung, ein Teil 40%iges Formalin) oder auch mit Osmiumsäure fixiert. Durch Spülung mit destilliertem Wasser werden Sublimat- oder Osmiumsäure-Kristalle gelöst, und das Gefäß kann nun in die aufsteigende Alkoholreihe gegeben werden, (je 30 Min. in 70,80,96 und 100%igen Alkohol) um dann mit Cedukol (Zelluloseacetat) über-

Abbildung 1



Mensch, 560-f. vergr.



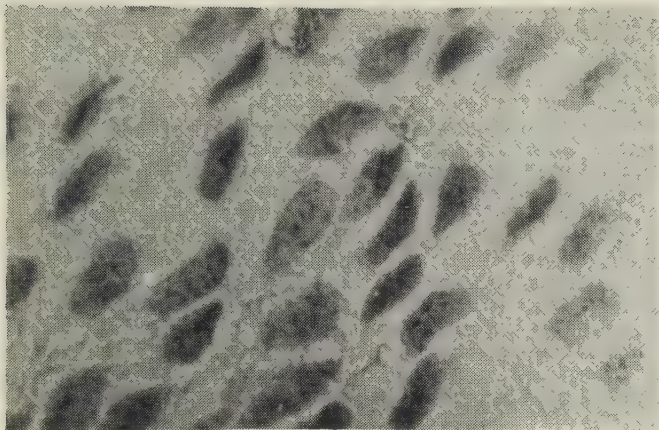
Meerkatze, 560-f. vergr.

schichtet zu werden. Nach etwa einer Stunde gelingt es das angetrocknete Cedukol so abziehen, daß nur eine im Wesentlichen einschichtige Endothelschicht an dem Film haften bleibt. Das Endothelpräparat kann nun gefärbt und eingedeckt werden. Als Eindeckmittel verwendeten wir das indifferente Paraffinum liquidum. Die Abbildung 2 (S.15) zeigt das Endothel einer Aorta von der Meerkatze.

1.) Färbung der Thrombozyten

Thrombozyten lassen sich sehr viel schwerer anfärben als etwa Leukozyten und Erythrozyten. Insbesondere die ausgebreiteten Thrombozyten werden mit der üblichen Ausstrichfärbung nach Pappenheim - Giemsa nur ganz schwach angefärbt. Hierfür ist in erster Linie ihre sehr geringe Schichtdicke von etwa 0,2 My verantwortlich. Andererseits enthalten aber die Thrombozyten, soweit bisher bekannt, keine Strukturen, die es ermöglichen mit histochemischen Verfahren eine spezifische Anfärbung durchzuführen. Marx, Ibrom und Stanislawski verwendeten bei ihrer Methode zur Färbung ausgebreiteter Thrombozyten eine Oxydation dieser Zellen in einer KMnO_4 - Lösung, die eine wesentliche Steigerung der Farbaufnahme zur Folge hatte. Wir haben versucht mit anderen Färbungen ausgebreitete Thrombozyten sichtbar zu machen. Mit Eosin-Lösungen ließen sich die Thrombozyten nur sehr schwach anfärben. Auch unter Verwendung verschiedener Pufferlösungen konnten wir keine Steigerung der Farbaufnahme erzielen. Auch Färbversuche mit Methylenblau, Kristallponceau, oder Versuche mit den Pufferlösungen nach A. Pichinger ergaben keine befriedigenden Ergebnisse. Wir gingen schließlich dazu über unsere Endothelpräparate mit einer Giemsalösung zu färben, nachdem sie vorher in einer KMnO_4 - Lösung (0,25%ig) oxydiert wurden. Die Endothelzellen, die auf diese Weise gefärbt wurden, zeigen eine Überfärbung der Zellkerne, und eine mäßige Färbung des Protoplasmas. Etwa auf dem Endothel haftende Thrombozyten hofften wir in diesen Präparaten erkennen zu können.

Abbildung 2



Meerkatze, 1400-f. vergr.

Insgesamt haben wir etwa 10qcm Endothel auf diese Weise untersucht, wobei das Endothel in erster Linie von Rhesusaffen stammte. Eine kontinuierliche Schicht ausgebreiteter Thrombozyten konnten wir in diesen Präparaten in keinem Falle sichtbar machen. Wir bekamen vielmehr den Eindruck, daß an einzelnen Stellen einzelne mehr oder weniger umgewandelte, und auch teilweise ausgebreitete Thrombozyten am Endothel hafteten.

2.) Verhalten der Thrombozyten am Rattenmesenterium.

Mit dem Ziel zu prüfen, ob sich Thrombozyten auf organischem Material ausbreiten, überschichteten wir ein Stück Mesenterium der Ratte mit verdünntem menschlichem Zitratplasma. Wir beobachteten das Verhalten der Throm-

bozyten an den durchsichtigen Stellen des Mesenteriums. Eine Ausbreitung von Thrombozyten konnte in keinem Falle beobachtet werden. Es kam viel mehr offenbar an dem Mesenterium zur viskösen Metamorphose der Plättchen mit Blasenbildung und schließlichem Zerfall der Plättchen.

Diese Untersuchungen wurden nicht mit Rattenthrombozyten durchgeführt, weil die Thrombozyten der Ratte eine sehr viel stärkere Neigung zur Agglutination haben als menschliche Thrombozyten, und da es außerordentlich schwierig ist eine Ausbreitungsfähigkeit der Rattenthrombozyten nachzuweisen. Nur bei der Entnahme von kleinen Mengen Blut, die sehr schnell mit Zitrat geschüttelt wurden, gelang es uns zu zeigen, daß auch Rattenthrombozyten prinzipiell die Fähigkeit haben sich auszubreiten. Es war allerdings nur ein sehr geringer Anteil von Thrombozyten, der sich unter diesen Bedingungen ausbreitete. Offenbar kommt es schon bei dem Austritt aus der Wunde und dem Kontakt mit der Nadel, wahrscheinlich durch schnelle Thrombinbildung, zur weitgehenden Agglutination.

Wurden Hela-Zellen (Zellkultur menschlicher Karzinomzellen) mit einer menschlichen Thrombozytensuspension überschichtet, so konnte zwar ein Anhaften der Thrombozyten an den Hela-Zellen, aber nie eine Ausbreitung beobachtet werden.

3.) Übertragung des dem Endothel aufgelagerten Materials auf Objektträger.

Nachdem es mit den bisher versuchten Methoden nicht gelungen war ausgebreitete Thrombozyten auf Endothel- oder anderen Zellen nachzuweisen, stellten wir Tupfpräparate mit frischen Aortenstückchen des Rhesusaffen her. Dabei gingen wir folgendermaßen vor:

Das frisch herausoperierte Gefäß des vorher heparinisierten Tieres wurde in einer Kochsalz-Zitrat oder Kochsalz-Heparin-Lösung gespült, vorsichtig aufgeschnitten und sofort auf einen normalen Objektträger abgetupft. Anschließend erfolgte die Fixation des am Objektträger haftenden Materials mit Osmiumsäure, und die Färbung mit Giemsalösung.

Auch auf diese Weise gelang es uns nicht ausgebreitete Thrombozyten an den Endothelien sicher nachzuweisen. Die

so hergestellten Präparate lassen eine Differenzierung der haftenden Partikel nicht mit Sicherheit zu. Es kann sich jedoch sehr wohl um Thrombozytenmaterial handeln.

4.) Überschichtung frisch operierter Aorten vom Rhesusaffen mit thrombozytenhaltigem Plasma.

Wir überschichteten nun frisch herauspräparierte Aorten des Rhesusaffen mit menschlichen oder mit vom Rhesus - affen stammenden thrombozytenhaltigen Plasmen. Nach halbstündiger Inkubationszeit und vorherigem Abspülen des überstehenden Plasmas wurden diese Aorten genauso behandelt, wie auf Seite 12 beschrieben.

Dabei ergab sich, daß auch mit dieser Methode eine gleichmäßige Schicht ausgebreiteter Thrombozyten nicht nachgewiesen werden konnte. Auch in diesen Präparaten waren einzelne, besonders nicht ausgebreitete Thrombozyten, erkennbar.

5.) Umwandlung von lebenden ausgebreiteten Thrombozyten durch Zugabe von Calciumchlorid, Thromboplastin oder Thrombin.

Auf silikonisiertem Glas ausgebreitete Thrombozyten wurden nach Abpipettieren des überstehenden verdünnten Zitratplasmas mit 1 ml einer Calciumchloridlösung überschichtet. 10 Minuten später wurden die Präparate fixiert und gefärbt.

Es ergab sich folgendes Bild:

Keine wesentliche Änderung der ausgebreiteten Thrombozyten, aber in der Nähe von haftenden Erythrozyten weitgehende Verschmelzung der Thrombozyten miteinander. Zwischen dem Fibrinnetz, daß sich in der Regel von diesen Präparaten leicht abspülen ließ, und den umgewandelten, miteinander verschmolzenen, wie den intakten Thrombozyten, ließ sich keine Beziehung erkennen. Die nicht ausgebreiteten spinnenförmigen Thrombozyten waren dagegen in der Regel in das Fibrinnetz einbezogen. Wurden unter sonst gleichen Bedingungen ausgebreitete Thrombozyten mit einer Mischung von Thromboplastin und Calciumchlorid (1:1), oder mit einer Thrombinlösung überschichtet so

ließ sich, besonders mit dem Phasenkontrastmikroskop zeigen, daß sich die Thrombozyten, auch die ausgebreiteten, in wenigen Sekunden weitgehend umwandeln. Dabei kommt es zur Bildung von Blasen und Pseudopodien mit häufigem Zerfall der Plättchen, mit Verschwinden der Grenzzone des Hyalomers an den ausgebreiteten Formen und häufig zu einem Ineinanderfließen mehrerer ausgebreiteter Thrombozyten in eine relativ homogene Schicht, in der sich oft das Granulomer ziemlich gleichmäßig verteilt. Dieser Vorgang ist offenbar ausschließlich der Wirkung des Thrombins zuzuschreiben, und es handelt sich hierbei wohl um das gleiche Phänomen wie es seit den Untersuchungen von Eberth und Schimmelbusch (1886) als visköse Metamorphose bekannt ist.

Die Vorgänge, die wir nach Übersichtung der Präparate nur mit Calciumchlorid beobachteten, dürften ebenfalls auf eine Thrombinbildung zurückzuführen sein. Wahrscheinlich haftet an der Oberfläche der Thrombozyten noch genügend Prothrombin, welches durch das zugeführte Calciumchlorid umgewandelt werden kann. Vorgänge, die mit der Retraktion vergleichbar wären, und die man bei der Recalcifizierung frischen Plasmas gut beobachten kann, finden sich unter unseren Versuchsbedingungen an der ausgebreiteten Thrombozytenschicht nicht.

Achenbach und Ryssel (1962) berichteten erst kürzlich über die visköse Metamorphose frischer, nicht mit gerinnungshemmenden Mitteln versetzter Thrombozyten, auf Grund ihrer Beobachtungen im Phasenkontrastmikroskop.

D. Diskussion

Das Ziel unserer Arbeit war das Verhalten der Thrombozyten zur Gefäßwand weiter aufzuklären. Die Untersuchungen mit zellfreien Thrombozytenextrakten, und deren Wirkung auf die Blutungszeit gemessen am Rattenmesenterium, ergaben keinen Hinweis dafür, daß mit diesen Extrak-

ten eine Verkürzung der Blutungszeit des normalen, heparinisierten oder Thrombopenischen Tieres erzielt werden konnte. Zu berücksichtigen ist, daß das verwendete Thrombozytenmaterial nicht von der Ratte, sondern vom Schwein stammte.

Es wurde weiterhin versucht Thrombozyten am Aortenendothel verschiedener Tiere nachzuweisen. Insbesondere weil wir vermuteten, daß ausgebreitete Thrombozyten als mehr oder weniger dichte Schicht die Gefäßwand auskleiden. Mit den bisherigen Methoden ist es uns nicht gelungen eine derartige Schicht nachzuweisen. Es ist jedoch dabei zu berücksichtigen, daß die Thrombozyten außerordentlich labil sind, und sich unter den verschiedensten Bedingungen in wenigen Sekunden umwandeln können. Es ist daher sehr wohl möglich, daß zwischen der operativen Loslösung der untersuchten Aorten und der Fixation des Endothels, die unter günstigsten Bedingungen 30-60 Sekunden dauert, bereits eine weitgehende Veränderung der Thrombozyten stattgefunden hat.

Am Rattenmesenterium und an Helazellen konnte eine Ausbreitung menschlicher Thrombozyten nicht beobachtet werden.

Das eindrucksvolle Verschmelzen von ausgebreiteten Thrombozyten bei Zugabe von Thromboplastin, und die Ähnlichkeit dieser Schicht mit den "Tupfpräparaten" läßt es uns mit Breddin möglich erscheinen, daß die Anheftung und Ausbreitung von Thrombozyten am Endothel entscheidend für die physiologische Gefäßabdichtung ist. Möglicherweise wird der anheftende Thrombozyt durch die latente Gerinnung umgewandelt, und verschmilzt zu einer das Endothel abdeckenden Schicht.

Diese nur ca. 0,1-0,2 My dicke strukturarme Schicht der umgewandelten Thrombozyten hat sich vielleicht bisher dem Nachweis entzogen.

An dieser latenten Gerinnung müßte das strömende Blut garnicht beteiligt sein. Die Aktivierung der latenten Gerinnung könnte vielmehr von der Endothelseite her er-

folgen; der einzelne Thrombozyt ist mit genügend Gerinnungsfaktoren beladen, um die Thrombinbildung zu ermöglichen, die zu seiner Umwandlung führt.

Die Annahme der Aktivierung von der Endothelseite her würde auch die hohe Umsatzrate des Faktors VII erklären, der für das "Intrinsic System" nicht notwendig ist. (Lasch und Rôka) (1953/54)

Geraten geringe Mengen Thrombin wirklich in die Blutbahn, so werden sie dort sofort inaktiviert. Ob das Fibrin bei diesen Vorgängen eine Rolle spielt, erscheint zweifelhaft. Die Thrombozyten enthalten jedoch an der Oberfläche so viel Fibrinogen adsorbiert, daß es deshalb durchaus möglich erscheint Fibrin in Spuren am Endothel nachzuweisen.

Die Neubildungsrate der Thrombozyten ist mit etwa $25\ 000/\text{mm}^3$ die relativ groß, und läßt eine fortlaufende Entfernung der abgelagerten und umgewandelten Thrombozyten möglich erscheinen.

In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Sinapius und Niemann (1959) von Interesse, die regelmäßig Endothelinschlüsse in menschlichen Gefäßen jenseits des 20. Lebensjahres fanden und annehmen, daß es sich um Thrombozytenmaterial handelt. Vielleicht wird die "gefäßabdichtende thrombozytäre Schicht" kontinuierlich von den Endothelzellen resorbiert und von der Blutseite her erneuert.

Die von uns untersuchten großen Gefäße bedürfen freilich garnicht der Thrombozyten zur Abdichtung. Bei einer Thrombozytopenie treten Blutungen in erster Linie im präkapillären und kapillären Bereich auf. Also im Bereich der Gefäße, die im Wesentlichen nur aus einem Endothelschlauch bestehen. Nur hier besteht die Notwendigkeit Lücken zwischen den einzelnen Endothelzellen wieder abzudichten um den Austritt von Erythrozyten zu verhindern, und nur im Bereich dieser Gefäße treten bei einer Thrombozytopenie Blutungen auf. Weitere Untersuchungen insbesondere mit dem Elektronenmikroskop erscheinen notwendig um die Beziehung zwischen Thrombozyten und Gefäß-

wand, besonders im Bereich der kleinen und kleinsten Gefäße, aufzuklären.

E. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß von Thrombozytenextrakten auf die Blutungszeit der Ratte, gemessen an durchtrennten Mesenterialgefäßen, untersucht. Weder am normalen, noch am heparinisierten, noch am thrombopenischen Tier konnte ein Einfluß der Thrombozytenextrakte auf die Blutungszeit festgestellt werden.

Es wurde weiterhin versucht Thrombozyten - insbesondere ausgebreitete Thrombozyten - am Aortenendothel von Kaninchen, Hunden, Meerkatzen und besonders Rhesusaffen nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurden einschichtige Endothelpräparate hergestellt und gefärbt. Es gelang mit dieser Methode nicht, ausgebreitete und dem Endothel anhaftende Thrombozyten darzustellen.

Das Verhalten ausgebreiteter Thrombozyten nach Zugabe von Calciumchlorid, Thromboplastin und Thrombin wurde untersucht.

Es fand sich eine Umwandlung ausgebreiteter Thrombozyten unter dem Einfluß von Thrombin, die dem bekannten Mechanismus der viskösen Metamorphose nicht ausgebreiteter Thrombozyten entsprechen dürfte.

Die Beziehungen zwischen Thrombozyten und Gefäßwand wurden diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

- Achenbach, W.
Russel, U. Phasenoptische Thrombozyten -
studien während der Gerinnung
in vitro, Med. Welt 17 (1962)
. 947.
- Baumgartner, W. Klinische Demonstrationen,
Helv. med. Acta 23 (1956) 311.
- Braunsteiner, H. Über Morphologie, Physiologie
und Pathologie der Thrombozyten,
Kli. Wo. (1951) 835.
- Thrombopathie und Thrombasthenie,
Beih. zu Wien. Z. Innere Med. 36
(1955)
- Breddin, K. Zur Klinik der Thrombozyten-
funktionsstörungen unter be-
sonderer Berücksichtigung der
Ausbreitungsfähigkeit der Throm-
bozyten an silikonisierten Glas-
flächen, Thrombos. Diathes. hae-
morrh. (Stuttg) 9 (1963) 525.
- Breddin, K. Über den Einfluß von Thrombo-
zytenextrakten auf die Fibrin-
festigkeit im Thrombelastogramm,
Kli. Wo. 38 (1960) 1116.
- Donalies, W.
- Chambers, R. Intercellular cement and capill-
ary permeability, Physiol. Rev.
27 (1947) 436.
- Zweifach, B.W.
- Copley, A.L. Effect capillarogique de la
fibrinolysine, Arch. int.
Pharmacodyn. 99 (1954) 426.
- Neue Anschauung über Haemorrh-
agie, Haemostase und Thrombose,
Arztl. Forsch. 11 (1957) 114.
- Danielli, J.F. Capillary permeability and
oedema in the perfused frog,
J. Physiol. (Lond.) 98 (1940)
109.
- Duguid, J.B. The arterial lining, Lancet 11
(1952) 207.
- Eberth, J.C. Die Blutplättchen und die Blut-
gerinnung, Virchows Arch. path.
Anat. 103 (1886) 39.
- Schimmelbusch, C.

- Feissly, R. Thrombozytenzählung, Rev.
Ludin, H. Hématol. 4 (1948) 481.
- Glanzmann, E. Hereditäre hämorrhagische
Thrombasthenie, Jb. Kinder-
heilk. 38 (1918) 113.
- Thrombasthenie in der ersten
Lebenszeit, Arch. Kinderheilk.
141 (1951) 191.
- Jaques, L.B. Spontaneous Hemorrhage with
Antikoagulants, Circulation
Vol XXV. (Jan. 1962) 130.
- Köppel, G. Elektronenoptische Untersuch-
ungen zur Funktionsmorphologie
der Thrombozyten und zum Ge-
rinnungsablauf im normalen
menschlichen Nativblut, Z. Zell-
forsch. 47 (1958) 40.
- Lasch, H.G. Über den Bildungsmechanismus
Röka, L. der Gerinnungsfaktoren Prothrom-
bin und Faktor VII, Kli. Wo.
(1954) 460.
- Zur Prothrombinbildung in der
Leber, Z. physiol. Chem. 294
(1953) 30.
- Lipp, W. Histochemische Methoden, Verlag
R. Oldenbourg, München Lieferung
7.
- Löhr, G.W. Beziehungen zwischen Plättchen-
stoffwechsel und Retraktion der
Blutgerinnsel, Dtsch. med. Wo.
86 (1961) 897 u. 949.
- Lüscher, E.F. Thrombozytenfaktoren, Ergeb.
Phys. 50 (1959) 1.
- Extraction of an Actomyosin-
like Protein from Human Throm-
bocytes, Nature (Lond.) 184
(1959) 276.
- Marx, R. Die Färbung folien- und glas-
adhaerenter ausgebreiteter Throm-
bozyten. Ein Verfahren zur ver-
besserten lichtmikroskopischen
Thrombozytenanalyse, Blut VI
(1960) 335.

- Roes, J. Blood coagulation as a continuous process, Thromb. Diath. haem. 1 (1957) 471.
- Roskam, J. Coagulation sanguine, hémostase spontanée et thrombose, Proc. 7th Congr. europ. Soc. Haemat. London 1959 part II (1960) 824.
- Hemostase spontanée et coagulation sanguine, Extrait des Acta Clinica Belgica, Tome XVI fasc. 2 (1961) 93.
- Roskam, J.
Bounameaux, Y. Etude de l'agglutination et de la métamorphose visqueuse des plaquettes sanguines, Intern. Soc. of Blood Transf. (1958/59) 877.
- Sinapius, D. Über das Aortenendothel, Virchows Arch. 322 (1952) 662.
- Sinapius, D.
Nieman, U. Die Entstehung von Cytoplasmaeinschlüssen im Endothel der Aorta und großer Arterien, Virch. Arch. path. Anat. 322 (1959) 324.
- Wilbrandt, W.
Lüscher, E.
Asper, H.
Asper, H. Der Einfluß von Thrombozytenprotein auf die Permeabilität der Blutkapillaren, Helv. Physiol. Acta 14 (1956) 81.
- Witte, S. Über die Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität, Folia haematologica, Neue Folge Bd. 1 (1957) 320.

Herrn Dr. med. K. Breddin möchte ich
sehr herzlich danken für die Überlassung
des Themas und die Leitung der Arbeit,
sowie für seine Unterstützung und seine
freundlichen und wertvollen Ratschläge.

Wir danken Herrn Prof. Dr. med. O. Günther,
Paul-Ehrlich-Institut Frankfurt am Main,
für seine großzügige Unterstützung, die uns
zahlreiche Tierversuche ermöglichte.

Lebenslauf

Geboren am 8. Sept. 1938 in Frankfurt/Main als erstes Kind des Ingenieurs Wenzelaus Jäger und seiner Ehefrau Maria Jäger, geb. Weyman, wurde ich nach unserer Evakuierung 1943 in Oberschmitten/Oberhessen eingeschult und besuchte dort die ersten Volksschulklassen.

Nach der Rückkehr 1948 nach Frankfurt/Main wurde ich Schüler des humanistischen Heinrich-von-Gagern-Gymnasiums, welches ich mit dem Reifezeugnis am 8. März 1958 verließ.

Danach begann ich das medizinische Studium an der Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt/Main. Im Februar 1959 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und legte im Oktober 1960 die ärztliche Vorprüfung ab.

Das zweite klinische Semester studierte ich in Freiburg/Breisgau.

Das Studium setzte ich dann an der Universität in Ffm. fort und bestand hier am 27.1.1964 die ärztliche Prüfung.

Frankfurt/Main, den 10. Februar 1964

Wenzel Jäger

Meine akademischen Lehrer waren:

Universität Frankfurt/Main:

Prof. Dr. med. W. Amelung (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. Dr. med. dent. W. Artelt (Geschichte der
Medizin)
Prof. Dr. med. H. Bethke (Hygiene und Arbeitsmedizin)
Prof. Dr. phil. W. Cramer (Philosophie)
Prof. Dr. phil. M. Czerny (Experimentalphysik)
Prof. Dr. med. B. de Rudder (Kinderheilkunde)
Prof. Dr. med. K. Felix (Physiologische Chemie)
Prof. Dr. med. J. Frey (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. H. Frick (Anatomie)
Prof. Dr. med. R. Frowein (Psychiatrie und Neurologie)
Prof. Dr. med. R. Geißendörfer (Chirurgie)
Prof. Dr. phil. H. Giersberg (Zoologie)
Prof. Dr. med. E. Güntz (Orthopädie)
Prof. Dr. rer. nat. W. Halbsguth (Botanik)
Prof. Dr. med. R. Heintz (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. E. Heinz (Vegetative Physiologie)
Prof. Dr. med. L. Heller (Geburtshilfe und Frauenheil-
kunde)
Prof. Dr. med. F. Herrmann (Dermatologie)
Prof. Dr. med. K. Herzberg (Hygiene und Bakteriologie)
Prof. Dr. med. F. Hoff (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. P. Holtz (Pharmakologie und Toxikologie)
Prof. Dr. phil. M. Horkheimer (Philosophie und Soziologie)
Prof. Dr. med. H. Jantz (Neurologie und Psychiatrie)
Prof. Dr. med. J. Jürgens (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. G. Kahlau (Allgemeine Pathologie und patho-
logische Anatomie)
Prof. Dr. med. O. Käser (Geburtshilfe und Gynäkologie)
Prof. Dr. med. Dr. med. h.c.K. Kleist (Psychiatrie und
Neurologie)
Prof. Dr. med. W.A. Lieb (Augenheilkunde)
Prof. Dr. phil. B. Liebrucks (Philosophie)
Prof. Dr. med. R. Mittermaier (Hals-, Nasen- und Ohren-
heilkunde)
Prof. Dr. rer. nat. H. Müser (Physik)
Prof. Dr. med. R. Ortmann (Anatomie)
Prof. Dr. med. K.L. Radenbach (Innere Medizin)
Prof. Dr. med. W. Rotter (Pathologie)
Prof. Dr. phil. nat. P. Royen (Anorganische Chemie)
Prof. Dr. med. R. Schneider (Anatomie)
Prof. Dr. med. D. Starck (Anatomie)
Prof. Dr. med. F. Strnad (Röntgendiagnostik)
Prof. Dr. med. A.W. Schwenzer (Geburtshilfe und Frauen-
heilkunde)
Prof. Dr. med. R. Thiel (Augenheilkunde)
Prof. Dr. med. E. Ungeheuer (Chirurgie)
Prof. Dr. med. K. Weiße (Kinderheilkunde)
Prof. Dr. phil. Th. Wieland (Organische Chemie)

Prof. Dr. med. K. Wezler (Physiologie)
 Prof. Dr. med. H. Zimmermann (Allgemeine Pathologie und
 pathologische Anatomie)
 Prof. Dr. med. J. Zutt (Psychiatrie und Neurologie)
 Priv. Doz. Dr. med. H.K. Brehm (Geburtshilfe und Frauen-
 heilkunde)
 Priv. Doz. Dr. med. P. Christ (Innere Medizin)
 Priv. Doz. Dr. med. R. Heinecker (Innere Medizin)
 Priv. Doz. J.E. Otto (Augenheilkunde)
 Priv. Doz. W. Weber (Chirurgie und Urologie)

Universität Freiburg/Breisgau:

Prof. Dr. med. P. Beickert (Hals-, Nasen-, Ohren-Heilkunde)
 Prof. Dr. med. F. Büchner (Pathologie)
 Prof. Dr. med. C. Faust (Neurologie und Psychiatrie)
 Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Göpfert (angewandte Physiologie)
 Prof. Dr. med. F. Hahn (Pharmakologie und Toxikologie)
 Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. Dr. med. h.c. Dr. med. h.c.
 L. Heilmeyer (Innere Medizin)
 Prof. Dr. med. R. Jung (Neurophysiologie und Psychiatrie)
 Prof. Dr. med. H. Krauss (Chirurgie)
 Prof. Dr. med. J. Rehn (Chirurgie)
 Prof. Dr. med. T. Riechert (Neurochirurgie)
 Priv. Doz. Dr. med. B. Göppert (Psychiatrie und Neurologie)

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Untersuchung über die Beziehungen zwischen Thrombozyten und Gefäßwand" in der 1. Medizinischen Universitätsklinik zu Frankfurt/Main unter der Leitung von Prof. Dr. med. Rolf Heinecker mit der Unterstützung von Dr. med. Klaus Breddin ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 10. Februar 1964

Wunel jäg-

